

(54) POLYMER CONTAINING PHENYLBORONIC GROUP

- (11) 5-310844 (A) (43) 22.11.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 4-142040 (22) 8.5.1992
 (71) NIPPON OIL & FATS CO LTD (72) YASUHISA SAKURAI(7)
 (51) Int. Cl.⁵ C08F30/06, A61K37/26, A61K47/32, C08F12/28, C08F220/34, C08F220/60, C08F226/06, G01N30/48

PURPOSE: To obtain a polymer useful as a packing material for liquid chromatography or an insulin releasing complex by polymerizing an ethylenically unsaturated monomer containing a phenylboronic group with an ethylenically unsaturated amine monomer.

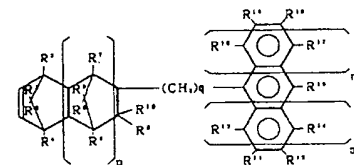
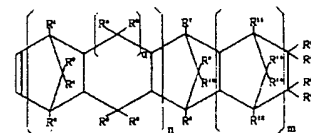
CONSTITUTION: A polymer containing phenylboric groups is obtained by polymerizing a monomer composition comprising 10 pts.wt. ethylenically unsaturated monomer containing a phenylboric group (e.g. (meth)acrylamidophenylboronic acid) and 2-200 pts.wt. ethylenically unsaturated amine monomer (e.g. vinylbenzylamine). This polymer can combine with a polyhydroxyl compound at a pH of 7.4 and therefore can be used to separate various polyhydroxyl compounds. Further, an insulin release complex containing this polymer and insulin modified with a hydroxyl compound can release the modified insulin at a physiological pH of 7.4 according to the concentration of a polyhydroxy compound such as sugar.

(54) RANDOM CYCLOOLEFIN MULTICOMPONENT POLYMER AND ITS PRODUCTION

- (11) 5-310845 (A) (43) 22.11.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 4-117417 (22) 11.5.1992
 (71) MITSUI PETROCHEM IND LTD (72) TOSHIHIRO AINE(3)
 (51) Int. Cl.⁵ C08F210/00, C08F4/642, C08F4/68, C08F232/08

PURPOSE: To obtain a random copolymer excellent in transparency, heat resistance and mechanical properties and also in melt flow by copolymerizing a specified α -olefin with a specified norbornene derivative and a specified cycloolefin.

CONSTITUTION: The copolymer is produced by copolymerizing a 2C or higher α -olefin (A) with a 11C or lower norbornene derivative (B) of formula I (wherein R¹ and R² are each H, halogen, a 4C or lower hydrocarbon group or the like) and a 12C or higher cycloolefin (C) of formula II (wherein n is 0 or 1; m is 0 or a positive integer; q is 0 or 1; R¹ to R¹⁸, R^a and R^b are each H, halogen, a hydrocarbon group or the like) or of formula III (wherein p and q are each 0 or a positive integer; m and n are each 0, 1, or 2; and R¹ to R¹⁹ are each H, halogen, a hydrocarbon group, alkoxy or the like) in B to C molar ratio of 85/15-30/70 in a hydrocarbon solvent in the presence of a catalyst comprising a soluble vanadium compound and an organoaluminum compound or a catalyst comprising a metallocene compound of a transition metal selected from the group IVB metals and an organoaluminumoxy compound.

(54) ETHYLENE/ α -OLEFIN COPOLYMER

- (11) 5-310847 (A) (43) 22.11.1993 (19) JP
 (21) Appl. No. 4-158459 (22) 8.5.1992
 (71) NIPPON OIL CO LTD (72) KAZUO MATSUURA(3)
 (51) Int. Cl.⁵ C08F210/16

PURPOSE: To provide a new ethylene/ α -olefin copolymer excellent in melt properties such as flow and good in impact resistance, mechanical strengths, transparency and low-temperature heat sealability.

CONSTITUTION: The copolymer is a new ethylene/4-2C α -olefin copolymer satisfying the following requirements: melt index of 0.01-100, density (d) of 0.880-0.940, Mw/Mn of 2.0-15, N value of 1.25-2.5, N value $\geq 1.32 \log (Mw/Mn) + 0.86$, DSC melting point peak of 70-120°C, and $-710d + 662 \leq B \leq -725d + 686$ (wherein B is the degree of branching per 1000 carbon atoms).

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平5-310844

(43)公開日 平成5年(1993)11月22日

(51)Int.Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 F 30/06	MNT	7242-4 J		
A 6 1 K 37/26	ADP	8314-4 C		
47/32	B	7433-4 C		
C 0 8 F 12/28	M J Y	7211-4 J		
220/34	MMR	7242-4 J		

審査請求 未請求 請求項の数 3 (全 5 頁) 最終頁に続く

(21)出願番号 特願平4-142040

(22)出願日 平成4年(1992)5月8日

(71)出願人 000004341
日本油脂株式会社
東京都千代田区有楽町1丁目10番1号

(72)発明者 櫻井 靖久
東京都杉並区永福3-17-6

(72)発明者 岡野 光夫
千葉県市川市国府台6-12-12

(72)発明者 片岡 一則
千葉県柏市大室1083-4

(72)発明者 小山 義之
千葉県野田市岩名2-42-26

(74)代理人 弁理士 舟橋 榮子

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 フェニルボロン酸基含有重合体

(57)【要約】

【構成】 フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体10重量部に対して、アミノ基を有するエチレン性不飽和単量体2~200重量部を含む、単量体組成物を重合させてなるフェニルボロン酸基含有重合体。該重合体からなる液体クロマトグラフィー用充填剤。該重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体。

【効果】 前記重合体、及びこの重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体は新規な化合物であり、特に前記重合体は生理的pH=7.4において多価水酸化化合物と結合することが可能であり、各種多価水酸化化合物の分離に使用することが可能である。また、前記複合体は生理pH=7.4において糖等の多価水酸化化合物濃度に応じて修飾インシュリンを放出することが可能である。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体10重量部に対して、アミノ基を有するエチレン性不飽和単量体2～200重量部を含む、単量体組成物を重合させてなるフェニルボロン酸基含有重合体。

【請求項2】 請求項1記載のフェニルボロン酸基含有重合体からなる液体クロマトグラフィー用充填剤。

【請求項3】 請求項1記載のフェニルボロン酸基含有重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】本発明は、フェニルボロン酸とアミノ基とを含有する重合体に関する。フェニルボロン酸とアミノ基とを含有する重合体は、液体クロマトグラフィー用充填剤として、また糖濃度に応じてインシュリンを放出する薬物放出複合体として有用である。

【0002】インシュリンを放出する薬物放出複合体はインシュリン依存型糖尿病患者の治療剤となる。

【0003】

【従来の技術】

(1) フェニルボロン酸基を不溶性担体に固定化した液体クロマトグラフィー用充填剤としては、不溶性担体としてセルロース (Biochemistry, 9, 4396 (1970))、アガロース (米国特許3,912,595)、ポリアクリルアミド (Anal. Biochem, 66, 532 (1975))、ガラス等を用いたものなどが知られている。また、p-ヒドロキシボリルスチレンとジビニルベンゼンの共重合体によって得られるポリマー (特開昭59-223706) が公知である。

【0004】しかしながら、(1) においてフェニルボロン酸基のpKaは約8.6であることから、生理的なpH=7.4においては十分な量の $-B(OH)_2$ が得られず、アルカリ域以外で使用することが困難であった。また、(2) フェニルボロン酸基が導入された高分子とヒドロキシル基化合物修飾インシュリン (トリス (ヒドロキシメチル) アミノメタン修飾インシュリン、またはグルコン酸修飾インシュリン) による糖濃度応答性薬物放出複合体が知られている (特開平1-270215)。

【0005】しかしながら、(2) の系もフェニルボロン酸のpKaが約8.6であるために、pH=7.4において修飾インシュリンを糖濃度に応じて放出させることは困難であった。また、(3) アクリルアミドフェニルボロン酸とジメチルアミノプロピルアクリルアミドを共重合した系において、pH=7.4においてアミノ基の対電子対がフェニルボロン酸のボロン原子に配位することによって、ボロン酸基が見かけ上4価となり、多価水酸基化合物であるポリビニルアルコールとコンプレックスを形成することが確認された (Polymers for Advanced Technologies; Vol. 2, p261-264 (1991))。しかしながら

(3) の重合体は水溶性であり、液体クロマトグラフィー

用充填剤、修飾インシュリン放出複合体とするには不向きであった。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】本発明の目的は、pH=7.4付近で多価水酸基化合物を分離することかできる非水溶性の重合体を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】本発明はフェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体10重量部に対して、アミノ基を有するエチレン性不飽和単量体2～200重量部を含む、単量体組成物を重合させてなる分子量フェニルボロン酸基含有重合体である。また、本発明は、この重合体からなる液体クロマトグラフィー用充填剤、及びこの重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体である。

【0008】本発明においてフェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体としては、例えば(メタ)アクリルアミドフェニルボロン酸、p-ヒドロキシボリルスチレン、N-(4'-ビニルベンジル)-4-フェニルボロン酸カルボキシラート等が挙げられる。アミノ基を有するエチレン性不飽和単量体としては、1級、2級、3級、4級塩のいずれかのアミノ基を含むエチレン性不飽和単量体であり、例えばビニルベンジルアミン、アミノスチレン、2-ビニルピリジン、3-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、2-ビニルイミダゾール、N-メチル-2-ビニルイミダゾール、N-ビニルイミダゾール、N,N-ジメチルアミノプロピルアクリルアミド、N,N-ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド、N,N-ジメチルアミノエチルアクリレート、N,N-ジメチルアミノエチルメタクリレート、N,N-ジエチルアミノエチルアクリレート、N,N-ジエチルアミノエチルメタクリレート、N,N-ジメチルアミノプロピルアクリルアミド各種4級塩、N,N-ジメチルアミノプロピルメタクリルアミド各種4級塩、N,N-ジメチルアミノエチルアクリレート各種4級塩、N,N-ジメチルアミノエチルメタクリレート各種4級塩、N,N-ジエチルアミノエチルアクリレート各種4級塩、N,N-ジエチルアミノエチルメタクリレート各種4級塩などが挙げられる。

【0009】フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体は、全単量体100重量部に対して0.1～50重量部の範囲で用いることが好ましく、さらに好ましくは0.5～30重量部の範囲で用いるのが良い。アミノ基を有するエチレン性不飽和単量体は、フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体10重量部に対して2～200重量部の範囲で用いられるが、好ましくは30～100重量部の範囲で用いるのが良い。

【0010】フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体10重量部に対してアミノ基を有するエチレン性不飽和単量体が2重量部未満の場合、生理的条件(p

H=7.4)でのボロン酸の結合力が弱くなり、200重量部を超えるとアミノ基によるイオン交換の影響が大きく、相対的にボロン酸基の機能であるヒドロキシル化合物との結合力が弱くなり好ましくない。

【0011】本発明において単量体組成物には、フェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体と共重合可能なエチレン性不飽和単量体を含むことが出来る。本発明において、単量体組成物中共重合可能なエチレン性不飽和単量体としては、例えば、(メタ)アクリルアミド、N-メチル(メタ)アクリルアミド、N,N-ジメチル(メタ)アクリルアミド、N-エチル(メタ)アクリルアミド、N-イソプロピル(メタ)アクリルアミド、(メタ)アクリロイルモルホリン、(メタ)アクリル酸、2-ヒドロキシエチル(メタ)クリレート、N-ビニルピロリドン、N-ビニルラクトン、(メタ)アクリル酸モノグリセロール、メチルビニルエーテル、無水マレイン酸、N-*t*-ブチルアクリルアミド、各種アルキル(メタ)アクリレート、アクリロニトリル、各種マクロモノマー、スチレン、メチルスチレン、クロルスチレン、酢酸ビニル、プロピオン酸ビニル、ビニルピバレート、メチル(メタ)アクリレート、エチル(メタ)アクリレート、*n*-ブチル(メタ)アクリレート、エチルビニルエーテル、*n*-ブチルビニルエーテル、塩化ビニル、塩化ビニリデン、エチレン、イソブチレン、アクリロニトリル等を挙げることが出来る。

【0012】この場合、共重合可能なエチレン性不飽和単量体の使用量としては、前記2種類の性質を損なわない量で選ばれ、共重合する総単量体100重量部に対して95重量部以下、好ましくは80重量部以下で使うことが出来る。また、多官能エチレン性不飽和単量体を必要に応じて添加することもでき、この場合、多官能エチレン性不飽和単量体の使用量は共重合する総単量体100重量部に対して40重量部以下、好ましくは20重量部の範囲であり、得られる重合体は架橋型になる。

【0013】多官能エチレン性不飽和単量体は、たとえば、アリル(メタ)アクリレート、エチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ジエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ポリエチレングリコールジ(メタ)アクリレート、ジアリルフタレート、ジビニルベンゼン、メチレンビス(アクリルアミド)等である。本発明の重合体は単量体組成物を共重合させることにより得られるが、この場合には一般的なラジカル重合法によって実施され、例えば溶液重合、塊状重合、乳化重合、懸濁重合などの公知の技術によって行うことが出来る。

【0014】ここで重合開始剤としては、例えば、過酸化ベンゾイル、過酸化ラウロイル、ジイソプロピルペルオキシジカーボネート、*t*-ブチルペルオキシ-2-エチルヘキサノエート、*t*-ブチルペルオキシピバレート、*t*-ブチルペルオキシジイソブチレート、アゾビスイソブチロニトリル、2,2'-アゾビス(2-アミノ

プロパン)二塩酸塩、4,4'-アゾビス(4-シアノ吉草酸)、2,2'-アゾビス[2-(5-メチル-2-イミダゾリン-2-イル)プロパン]二塩酸塩、2,2'-アゾビス[2-(2-イミダゾリン-2-イル)プロパン]二塩酸塩、2,2'-アゾビスイソブチルアミド二水和物、2,2'-アゾビス(2,4-ジメチルパレロニトリル)、2,2'-アゾビス(2-アミジノプロパン)ジヒドロクロリド、過硫酸塩、亜硫酸水素塩系等を用いることが出来る。重合開始剤の使用量としては総単量体100重量部に対して0.01~10重量部、更に好ましくは0.1~5重量部である。

【0015】共重合の条件としては必要に応じて重合系を不活性ガス、例えば、窒素、二酸化炭素、ヘリウムで置換ないし雰囲気下にし、重合温度は0~100℃の範囲で、重合時間としては0.1~72時間程度である。重合により得られる本発明の重合体の分子量は、重合温度、開始剤使用量等によって調整可能であり、数平均分子量1,000~1,000,000の範囲のものが好ましく、さらには10,000~100,000の範囲が好ましい。

【0016】本発明のフェニルボロン酸基含有重合体からなる液体クロマトグラフィー用充填剤は、該重合体を破碎させて用いることも出来るが、(逆相)懸濁重合によってビーズ状に重合したものをを用いるのが好ましい。この場合、単量体組成物が油性液体の場合は通常の水相に油性液体の単量体を懸濁させて重合する懸濁重合を用い、単量体組成物が水溶性の場合は逆相懸濁重合を用いることが出来る。逆相懸濁重合は、懸濁相としてクロロホルム、トルエン、テトラクロロエタン等の有機溶媒を用い、単量体組成物を水に溶解し多官能エチレン性不飽和単量体と共に重合することによってハイドロゲルビーズを得ることが出来る。

【0017】本発明の液体クロマトグラフィー用充填剤で分離可能な物質としてはヒドロキシル基を有することが条件であり、一価のアルコール類、多価のアルコールのいずれでもよい。多価のアルコールには、糖類、糖誘導体、カテコールアミン、糖蛋白、水酸化化合物修飾蛋白、ポリビニルアルコール等の水酸基含有高分子を含む。

【0018】溶離液として水系の緩衝液を用いた場合は、多価のアルコールを分離することが可能であり、pHが7以上、好ましくはpHが7.4~8.5で用いることが適当である。緩衝液の種類としては使用するpHで緩衝能を有していればいずれでも良く、HEPES緩衝液、リン酸緩衝液等を好ましく挙げることが出来る。ここで、この緩衝液にNaCl、KCl等の塩を加えてもよい。高濃度の塩を加えると重合体のアミノ基の影響であるイオン交換クロマトグラフィーとしての作用を避けることが出来、塩を加えないかあるいは低濃度の塩を加えるとアミノ基の影響であるイオン交換クロマトグラフィーとしての作用を出すことが出来る。

【0019】また、溶離液として水を含まない有機溶媒を用いた場合は、有機溶媒に不溶な液体クロマトグラフィー用充填剤を用いることができる。この場合、分離するヒドロキシル化合物は多価のアルコールである必要はなく、一価のアルコール類でも若干分離することが可能である。フェニルボロン酸基含有重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体に関しては、前記重合体にヒドロキシル化合物修飾インシュリンを結合させることによって作製される。

【0020】ヒドロキシル化合物修飾インシュリンとしては多価のヒドロキシル化合物が修飾されていることが好ましく、例えば、糖修飾インシュリン（特開昭59-502065）、トリス（ヒドロキシメチル）アミノメタン修飾インシュリン（特開平1-270215）またはグルコン酸修飾インシュリン等である。前記重合体と上述修飾インシュリンからなる複合体の作製に当たっては、修飾インシュリンと高分子中に存在するフェニルボロン酸基の仕込のモル比として1:0.01~1000が好ましく、特に1:0.1~100であることが望ましい。前記モル比が0.01未満では修飾インシュリンがフェニルボロン酸基に有効に結合しないために十分でなく、1000を超えると複合体の単位体積当たりの修飾インシュリンの量が減り、工業的にも有効でない。

【0021】また、複合体の作製方法としては、上記重合体を水溶液に浸漬し、これに修飾インシュリンを直接、または水溶液に溶解した状態で加える方法を用いる。ここで使用する水溶液としてはpHが7以上であることが望ましく、pHが7以下ではボロン酸基が3価（ $-B(OH)_3$ ）の状態を取り、修飾インシュリンが修飾したヒドロキシル基を介してフェニルボロン酸と結合することが困難である。

【0022】

【発明の効果】本発明のフェニルボロン酸基を有するエチレン性不飽和単量体とアミノ基を有するエチレン性不飽和単量体を含む単量体組成物を重合させてなる重合体、及びこの重合体とヒドロキシル化合物修飾インシュリンとを含むインシュリン放出複合体は新規な化合物であり、特に前記重合体は生理的pH=7.4において多価水酸基化合物と結合することが可能であり、各種多価水*

* 酸基化合物の分離に使用することが可能である。

【0023】また、前記複合体は生理的pH=7.4において糖等の多価水酸基化合物濃度に応じて修飾インシュリンを放出することが可能である。

【0024】

【実施例】以下、実施例に基づき本発明を具体的に説明する。

実施例1（フェニルボロン酸基含有重合体）

7.8×10⁻³モルのm-メタクリルアミドフェニルボロン酸（MAPB）、1.4×10⁻³モルのアクリルアミド（AAM）、2.8×10⁻³モルのN，N'-メチレンビス（アクリルアミド）（BisAAM）、3.3×10⁻³モルのN，N'-ジメチルアミノプロピルアクリルアミド（DMAPAA）を116mlの水に溶解し、28mlの1N-塩酸、0.4gの2，2'-アゾビス（2-アミジノプロパン）ジヒドロクロリドを更に加えた。この溶液を、4.8mlのソルビタンセスキオレエートを含む960mlのトルエン：クロロホルム=37：11に滴下し、窒素雰囲気下、60℃で7時間攪拌した。重合したビーズはトルエン、エタノール、水によって洗浄を行い、凍結乾燥を行った。作製したビーズのプラズマ発光分析の結果、ボロン酸基の含量は1.8×10⁻⁴mol/gであり、使用したモノマーの総重量と重合物の重量（m-メタクリルアミドフェニルボロン酸の組成比を1.8×10⁻⁴mol/gとして換算）がほぼ一致したことから、重合体の組成比はMAPB：AAM：BisAAM：DMAPAA=1.8：68.5：13.6：16.1であった。

【0025】実施例2（液体クロマトグラフ用充填剤）
実施例1で得られた0.48gの重合体（ボロン含量3.5×10⁻⁶モル）を緩衝液（pH=7.4、10mM-リン酸、100mM-塩化ナトリウム、流量；0.5ml/min.）で十分膨潤し、液体クロマトグラフィー用カラム（φ1cm×6cm）に充填した。次に100μlの7mg/mlの（1，2-プロパンジオール、1，3-プロパンジオール、1，1，1-トリス（ヒドロキシメチル）エタンをそれぞれインジェクションした。この時の溶出時間を示差屈折計にて検出した結果を表1に示す。

【0026】

【表1】

試料	溶出時間 (min.)
1，2-プロパンジオール	11.0
1，3-プロパンジオール	14.4
1，1，1-トリス（ヒドロキシメチル）エタン	23.1

実施例3（インシュリン放出複合体）

実施例1で得られた20mgの重合体（ボロン含量3.5×10

⁻⁶モル）を1mlの緩衝液（pH=7.4、10mM-リン酸、100mM-塩化ナトリウム）で十分膨潤し、236μlの前述

緩衝液に溶解した23.6mgのグルコン酸修飾インシュリン (3.5×10^{-6} モル)を加えた、一晚放置後、液体クロマトグラフィー用カラムに充填し ($\phi 5 \text{ mm} \times 10 \text{ mm}$)、前述の緩衝液にて200分リンスした後、200mg/dlのグルコースを含む前述緩衝液を10分、グルコースを含まない緩衝液を50分間リンスする操作を6回繰り返した。次に、200mg/dlのグルコースを含む緩衝液を10分、80mg/dlのグルコースを含む緩衝液を50分間リンスする操作を7500分繰り返した。

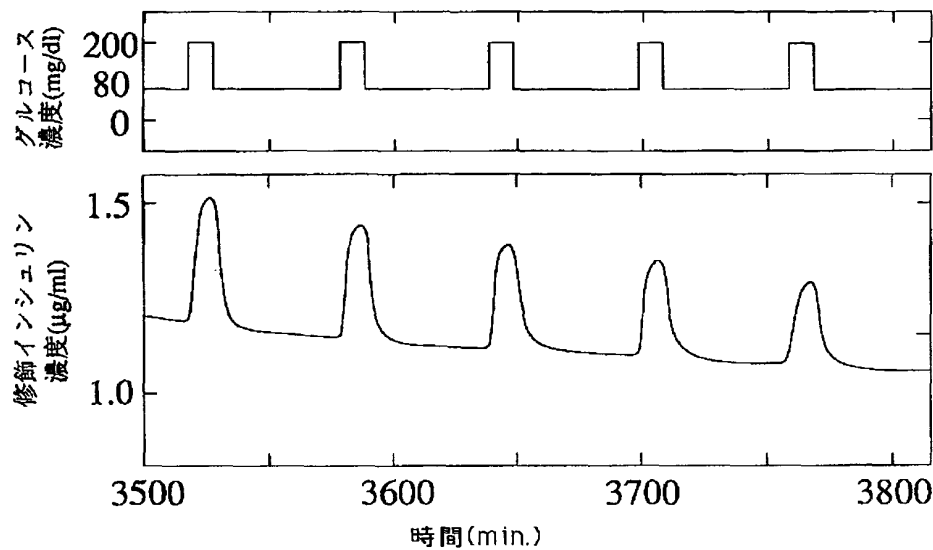
【0027】放出されたグルコン酸修飾インシュリンは*10

*インシュリンの持つ自然蛍光 ($E_x = 275 \text{ nm}$ 、 $E_m = 304 \text{ nm}$)を測定することによって行った。図1に3500分から3800分のインシュリン放出量の結果を示す。

【図面の簡単な説明】

【図1】 実施例3にて得られたグルコース濃度変化によるグルコン酸修飾インシュリンの放出を示すクロマトグラフである。図の上図はグルコース濃度 (mg/dl)、下図はカラムより放出した修飾インシュリンの濃度 ($\mu\text{g/ml}$) について時間 (分) 経過による変化を示す。

【図1】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. ⁵	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
C 0 8 F 220/60	MNH	7242-4 J		
226/06	MNM	7242-4 J		
G 0 1 N 30/48		P 8506-2 J		

(72)発明者 横山 昌幸
東京都品川区東大井5-26-25

※(72)発明者 鯉沼 康美
茨城県つくば市東新井32-16

(72)発明者 椎野 太二郎
千葉県柏市明原2-7-3

※(72)発明者 松本 竹男
茨城県つくば市東2-14-9